

ウイルス性炎症性脱髄およびウイルス性心筋炎マウスモデルにおけるNKT細胞の臓器特異的な役割

著者	川合 英一郎
号	85
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医第3495号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00097208

氏 名	かわい えいいちろう 川合 英一郎
学位の種類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 28 年 3 月 9 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項
学位論文題目	ウイルス性炎症性脱髄およびウイルス性心筋炎マウスモデルにおける NKT 細胞の臓器特異的な役割
論文審査委員	主査 教授 呉 繁夫 教授 齋木 佳克 教授 石井 直人

論文内容要旨

NKT 細胞は NK 細胞と T 細胞の両方の特性を持つ細胞として発見されたが、現在では CD1d 拘束性のリンパ球と定義されている。さらに特定の組み合わせを持つ T 細胞受容体 (invariant TCR) を有し糖脂質を抗原として認識する NKT 細胞を I 型 NKT 細胞、それ以外を II 型 NKT 細胞と分類している。NKT 細胞は自然免疫 (innate immunity) と獲得免疫 (acquired immunity) を繋ぐ働きがあるとされているが、感染するウイルスの種類によって防御的に働く場合と症状を悪化させるように働く場合があることが知られている。一方で NKT 細胞の詳細な働きについては明らかにはなっていない。本研究では、野生型 C57BL/6 マウスおよび C57BL/6 マウスをバックグラウンドとする NKT 細胞を有しない J α 18 ノックアウト (J α 18KO) マウスを用いて、タイラーウイルス (Theiler's murine encephalomyelitis virus; TMEV) 感染における NKT 細胞の役割を検討した。

タイラーウイルス (TMEV) は感受性のあるマウスに対して中枢神経の脱髄や心筋炎を引き起こすことが知られており、特に中枢神経感染による灰白脳炎の慢性期には脱髄 (TMEV-induced demyelinating disease; TMEV-IDD) を認めることがある。この TMEV-IDD は多発性硬化症に類似した病態であることから多発性硬化症のウイルス感染モデルとして広く研究に用いられてきた。また、過去の研究では NKT 細胞が欠損あるいは欠失した状態の SJL/J マウスや BALB/c マウスでは TMEV-IDD が惹起されると報告されている。

本研究では、まず中枢神経における NKT 細胞の働きを検討した。過去の SJL/J マウスや BALB/c マウスでの研究から、本来 TMEV-IDD に抵抗性である C57BL/6 マウスに TMEV を頭蓋内投与して感染させた場合、NKT 細胞が欠損していれば TMEV-IDD が惹起されると考えていた。しかし本研究において行った弱神経毒性 TMEV DA ウイルスの頭蓋内投与では、NKT 細胞が欠損する J α 18KO マウスにおいても野生型 C57BL/6 マウスと同様に脱髄所見はなく TMEV-IDD に抵抗性を維持したままであった。

自然免疫における NKT 細胞の働きを強神経毒性 TMEV GDVII ウイルスを用いて実験した。NKT 細胞を有する野生型 C57BL/6 マウスは生存率、LD50 値ともに低く感染に弱いことが示された。これは NKT 細胞が GDVII 感染時には症状を悪化させる働きを示しており、過去の CD1dKO マウスを用いた報告とは異なる結果であった。

(書式13)

また本研究の過程で TMEV ウイルスに感染したマウスでは臨床症状を呈さない軽症心筋炎が起こっていることが確認された。そこで本研究では経時的に心臓の超音波検査や病理組織検査を行い Ja18KO マウスが野生型 C57BL/6 マウスより広汎な T 細胞浸潤や線維化を示す心筋炎をきたすことが示した。また、Ja18KO マウスでは心筋組織中により多くのウイルス RNA が存在し、また抗ウイルス抗体価も高かったがリンパ球増殖試験での反応は弱く、IL-4 や IL-10 の産生も野生型 C57BL/6 マウスより低値であった。これは C57BL/6 マウスにおいては NKT 細胞がウイルス感染に対して防御的に作用していることを示すと考えられた。

これらの結果を以前の報告と比較すると、同じ TMEV を用いて NKT 細胞の働きを検討した実験においても NKT 細胞の働きはマウス種や臓器によって異なっており、防御的に働くことも、症状を悪化させる方向に働くこともあることがわかった。

審査結果の要旨

博士論文題目 ウイルス性炎症性脱髄およびウイルス性心筋炎マウスモデルにおける
NKT細胞の臓器特異的な役割

受付番号 15B-2 氏名 川合 英一郎

NKT細胞はNK細胞とT細胞の両方の特性を持つ細胞として発見されたが、現在ではCD1d拘束性のリンパ球と定義されている。さらに特定の組み合わせを持つT細胞受容体（invariant TCR）を有し糖脂質を抗原として認識するNKT細胞をI型NKT細胞、それ以外をII型NKT細胞と分類している。NKT細胞は自然免疫（innate immunity）と獲得免疫（acquired immunity）を繋ぐ働きがあるとされているが、感染するウイルスの種類によって防御的に働く場合と症状を悪化させるように働く場合があることが知られている。一方でNKT細胞の詳細な働きについては明らかにはなっていない。本研究では、野生型C57BL/6マウスおよびC57BL/6マウスをバックグラウンドとするNKT細胞を有しないJa18ノックアウト（Ja18KO）マウスを用いて、タイラーウイルス（Theiler's murine encephalomyelitis virus; TMEV）感染におけるNKT細胞の役割を検討した。

タイラーウイルス（TMEV）は感受性のあるマウスに対して中枢神経の脱髄や心筋炎を引き起こすことが知られており、特に中枢神経感染による灰白脳炎の慢性期には脱髄（TMEV-induced demyelinating disease; TMEV-IDD）を認めることがある。このTMEV-IDDは多発性硬化症に類似した病態であることから多発性硬化症のウイルス感染モデルとして広く研究に用いられてきた。また、過去の研究ではNKT細胞が欠損あるいは欠失した状態のSJL/JマウスやBALB/cマウスではTMEV-IDDが惹起されると報告されている。

本研究では、まず中枢神経におけるNKT細胞の働きを検討した。過去のSJL/JマウスやBALB/cマウスでの研究から、本来TMEV-IDDに抵抗性であるC57BL/6マウスにTMEVを頭蓋内投与して感染させた場合、NKT細胞が欠損していればTMEV-IDDが惹起されると考えていた。しかし本研究において行った弱神経毒性TMEV DA ウイルスの頭蓋内投与では、NKT細胞が欠損するJa18KOマウスにおいても野生型C57BL/6マウスと同様に脱髄所見はなくTMEV-IDDに抵抗性を維持したままであった。

自然免疫におけるNKT細胞の働きを強神経毒性TMEV GDVII ウイルスを用いて実験した。NKT細胞を有する野生型C57BL/6マウスは生存率、LD50値ともに低く感染に弱いことが示された。これはNKT細胞がGDVII感染時には症状を悪化させる働きを示しており、過去のCD1dKOマウスを用いた報告とは異なる結果であった。

また本研究の過程でTMEVウイルスに感染したマウスでは臨床症状を呈さない軽症心筋炎が起こっていることが確認された。そこで本研究では経時的に心臓の超音波検査や病理組織検査を行いJa18KOマウスが野生型C57BL/6マウスより広汎なT細胞浸潤や線維化を示す心筋炎をきたすことが示した。また、Ja18KOマウスでは心筋組織中により多くのウイルスRNAが存在し、また抗ウイルス抗体価も高かったがリンパ球増殖試験での反応は弱く、IL-4やIL-10の産生も野生型C57BL/6マウスより低値であった。これはC57BL/6マウスにおいてはNKT細胞がウイルス感染に対して防御的に作用していることを示すと考えられた。

これらの結果を以前の報告と比較すると、同じTMEVを用いてNKT細胞の働きを検討した実験においてもNKT細胞の働きはマウス種や臓器によって異なっており、防御的に働くことも、症状を悪化させる方向に働くこともあることがわかった。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。

学力確認結果の要旨

審査委員出席のもとに、学力確認のための試問を行った結果、本人は医学に関する十分な学力と研究指導能力を有することを確認した。

なお、英学術論文に対する理解力から見て、外国語に対する学力も十分であることを認めた。